

Project 505.7000

Ontwikkeling en verbeteringen methoden van onderzoek voor vlees en vleesprodukten

Projectleider: dr. H. Herstel

Rapport 91.57

December 1991

Evaluatie van twee commercieel verkrijgbare ELISA methoden voor de bepaling van kippe- en varkensvlees in verhitte vleeswaren

G. Cazemier en G.D. van Bruchem

Afdeling: Algemene Chemie, Biofarmaceutische Analyse

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-75400

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Copyright 1991, DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

hoofden onderzoekafdelingen (2x)

afdeling Algemene Chemie

afdeling Biofarmaceutische Analyse

programmabeheer en informatieverzorging (2x)

bibliotheek (3x)

circulatie

EXTERN:

Dienst Landbouwkundig Onderzoek

directie Wetenschap en Technologie

directie Milieu, Kwaliteit en Voeding

directie Veehouderij en Zuivel

directie Rijksdienst voor de keuring van Vee en Vlees

COVP-DLO "Het Spelderholt" (ir A.T.G. Steverink)

Inspectie Gezondheidsbescherming/Keuringsdienst van Waren Zutphen

Produktschap voor Vee en Vlees

Informatie Kennis Centrum

Redactie De Ware(n)-Chemicus

ABSTRACT

Evaluatie van twee commercieel verkrijgbare ELISA-methoden voor de bepaling van kippe- en varkensvlees in verhitte vleeswaren

Evaluation of two commercially available ELISA kits for the analysis of chicken and pork in heated meat products

Report 91.57

December 1991

G. Cazemier and G.D. van Bruchem

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)
P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

3 figures, 3 tables, 3 references

Two commercially available ELISA kits for the analysis of meat species in heated meat products were tested. The two evaluated kits were the Biokits cooked meat identification kit produced by Cortecs Diagnostics (UK) and the 100 test USDA protocol kit made by ABC Research (USA). The kits were tested on mixtures of beef with various percentages of chicken, mechanically deboned chicken meat and pork. The mixtures were heated at 80, 100 and 120°C.

The Cortecs Biokits ELISA kit was very complete and users friendly. All the examined species were very well detectable at the 1% level (heating temperatures 100 and 120°C).

The ABC Research ELISA kit was incomplete and complex. Use of another ABTS indicator than prescribed by ABC Research gave very bad results. With the right indicator could 1% of the tested species be detected at all temperature levels. Compared with the Cortecs kit the results were worse, however this may be due to the conditions under which the analyses were performed.

Key words: Meat speciation, pork, chicken, mechanically deboned chicken meat, adulteration, heated meat products, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

()

()

| | |
|--|------------|
| INHOUD | <u>blz</u> |
| ABSTRACT | 1 |
| SAMENVATTING | 5 |
| 1 INLEIDING | 7 |
| 2 METHODE EN MATERIAAL | 8 |
| 2.1 Geteste Elisa kits | 8 |
| 2.1.1 Cortecs Biokits cooked meat species identification kits | 8 |
| 2.1.2 ABC 100 test USDA protocol kit for ELISA detection of pork en de ABC 100 test USDA protocol kit for ELISA detection of poultry | 8 |
| 2.2 Monstermateriaal | 8 |
| 2.3 Extractie van de monsters en uitvoering van de Elisa's | 9 |
| 2.3.1 Cortecs biokits | 9 |
| 2.3.2 ABC research | 10 |
| 3 RESULTATEN EN DISCUSSIE | 10 |
| 3.1 Chemische samenstelling van het monstermateriaal | 10 |
| 3.2 Resultaten Elisa's | 10 |
| 3.2.1 Resultaten cortecs biokits Elisa | 10 |
| 3.2.2 Resultaten ABC research Elisa | 12 |
| 4 CONCLUSIES | 13 |
| LITERATUUR | 14 |
| TABELLEN | 15 |

{ }

()

SAMENVATTING

Er zijn twee commercieel verkrijgbare ELISA kits voor de bepaling van kippe- en varkensvlees in verhitte vleeswaren uitgetest. Het betrof de Biokits cooked meat identification kit van Cortecs Diagnostics (G.B.) en de 100 test USDA protocol kit van ABC Research (U.S.A.)

De kits werden getest met de volgende vleessoorten: kippevlees (kuikenborstfilet), kippeseparatorvlees en varkensvlees (magere varkenslappen). De vleessoorten werden gemengd met rundvlees en hulpstoffen en verhit bij 80, 100 en 120°C. De gehalten van de te bepalen vleessoorten waren 1, 2, 10, 25, 50 en 100% (voor zover mogelijk i.v.m. beschikbare ruimte).

De Cortecs ELISA kit was compleet en gebruiksvriendelijk en gaf uitstekende resultaten voor alle geteste vleessoorten. Gehalten van 1% waren gemakkelijk aan te tonen.

Voor de ABC ELISA kan worden gebruikt moeten nog een aantal chemicaliën worden aangeschaft. Vervanging van de door ABC voorgeschreven ABTS indicator door een andere gaf geen goede resultaten. Met de juiste indicator kon van alle geteste vleessoorten ook 1% worden aangetoond, de resultaten waren echter slechter dan bij gebruik van de Cortecs kit. Dit kan echter zijn veroorzaakt doordat de monsterextracten, na te zijn ontdooit, opnieuw werden ingevroren en eerst drie maanden later werden geanalyseerd.

()

()

1 INLEIDING

Voor het aantonen van vleesspecies in rauwe vleesprodukten is een aantal redelijk tot goed bruikbare methoden beschikbaar. Voor verhitte produkten zijn de mogelijkheden beperkt tot elektroforese, eventueel gecombineerd met immunochemische detectie, Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) en DNA hybridisatie. Electroforetische methoden zijn in het algemeen zeer tijdrovend, DNA hybridisatie bevindt zich nog in een ontwikkelingsstadium. (Cazemier 1990)

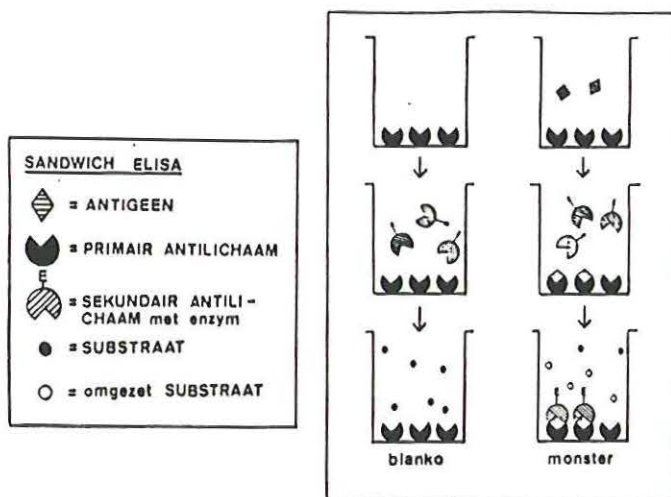
In de laatste jaren zijn een aantal ELISA kits voor het aantonen van vleesspecies in verhitte vleesprodukten op de markt gebracht waarvan er, voor zover ons bekend, momenteel nog twee commercieel verkrijgbaar zijn.

Deze kits, de Blokits cooked meat species identification kit van Cortecs Diagnostics, Techbase 1, Newtech Square, Deeside Industrial Park, Deeside, Clwyd CH5 2NT, Engeland en de 100 test USDA protocol kit van ABC Research, P.O. Box 1557, Gainesville, Florida 32602, USA zijn door ons uitgetest voor varkens- en pluimveevlees. Cortecs maakt tevens kits voor de bepaling van verhit rundvlees en schapevlees, ABC levert ook kits voor de bepaling van verhit rund-, schape-, paarde- en hertevlees.

De twee kits zijn sandwich ELISA's die waarschijnlijk beide zijn gebaseerd op onderzoek van Berger et al. (1988). Deze onderzoekers maakten antisera van gezuiverde antigenen uit rauw varkens- en kippevlees die sterk en specifiek reageerden met verhit varkens- en pluimveevlees.

Het principe van een sandwich ELISA is volgens Hoek en Beljaars (1989) als volgt: Het te bepalen

fig. 1



antigeen wordt tussen twee antilichamen gehouden (figuur 1). Het eerste antilichaam is gekoppeld aan de wand van het cupje. Het secundaire antilichaam is gelabeld met een enzym (bij de geteste kits met peroxidase). Het monster wordt opgebracht in het cupje. Eventueel in het monster aanwezige antigenen worden aan het vaste-fase antilichaam gebonden, waarna een bekende hoeveelheid enzym-gelabelde antilicha-

men aan het cupje wordt toegevoegd. Deze antilichamen (tegen het primaire antilichaam-antigeen-complex) koppelen zich weer aan het gebonden antigeen complex.

Overmatige antilichamen worden weggewassen en de enzymactiviteit wordt gemeten door een enzymsubstraat toe te voegen waardoor een kleurverandering ontstaat die een maat is voor de antigeenconcentratie in het monster.

2 MATERIAAL EN METHODEN

2.1 Geteste ELISA kits

2.1.1 Cortecs Biokits cooked meat species identification kits

De door ons ontvangen kits bevatten een plastic frame met 12 microtiterstrips van acht cupjes, drie strips waren gecoat met specifieke antisera tegen rund, drie tegen varken, drie tegen pluimvee en drie tegen schaaap. De kits zijn door ons alleen getest voor varkens- en pluimveevlees bij 100 °C en 120 °C. Deze kit werd niet getest met bij 80 °C verhitte monsters omdat, volgens het voorschrift monsters waarvan niet zeker is dat ze tot minstens 100 °C zijn verhit, deze alsnog moeten worden gekookt.

De kits bevatten verder alle benodigde chemicaliën, reagentia, en een duidelijke handleiding. De houdbaarheid van de kits is ca. 1 jaar, de prijs van een kit is £ 210,--.

2.1.2 ABC 100 test USDA protocol kit for ELISA detection of pork en de ABC 100 test USDA protocol kit for ELISA detection of poultry.

Deze kits bevatten elk vijf microtiterplaten die voor gebruik moeten worden gecoat met specifiek antiserum tegen de te bepalen slachtdiersoort.

De voor de bepaling benodigde buffers zijn evenals de substraat indicator (ABTS) niet in de kit aanwezig en moeten extra worden aangeschaft. Iedere kit bevat een uitgebreide handleiding. De houdbaarheid van de kits is minimaal 6 maanden, de prijs per kit is \$ 800,--.

2.2 Monstermateriaal

Voor de bepaling werd gebruik gemaakt van de volgende vleessoorten:

Rundvlees (runderlappen, gekocht bij een supermarkt)

Varkensvlees (magere varkenslappen, gekocht bij een supermarkt)

Kippevlees (kuikenborstfilet, gekocht bij een supermarkt)

Kippeseparatorvlees, beschikbaar gesteld door COVP-DLO "het Spelderholt"

Deze vleessoorten werden, voor zover nodig, 2x gemalen met een vleesmolen met platen van 3 mm. Met behulp van een deegmixer werden de volgende hulpstoffen door het vlees gemengd zodat mengsels

ontstonden met de volgende samenstelling:

- 887 g vlees
- 20 g nitrietpekelsout (0,6% NaNO_2 in NaCl)
- 40 g aardappelzetmeel
- 50 g water
- 3 g natriumdifosfaat

Het rundvlees/hulpstoffenmengsel werd in een Moulinex keukenmixer gemengd met 0, 1, 2, 10, 25, 50 en 100% van hulpstoffenmengsels van de andere vleessoorten. Deze mengsels werden verpakt in plastic zakjes, die werden dichtgeseald, of in glazen buisjes (doorsn. 1,5 cm). Ieder zakje of buisje werd gevuld met 5.00 ± 0.05 g van de verschillende vleesmengsels. De plastic zakjes werden 15 min. verhit bij 80 °C of bij 100 °C. De glazen buisjes werden gedurende 5 min. verhit bij 120 °C. De buisjes waren tijdens het verhitten afgedekt met aluminiumfolie. Na het verhitten werden de monsters afgekoeld in koud water.

Van de 100 % uitgangsvlees/hulpstoffenmengsels en de mengsels met 25 % separator-, kippe- en varkensvlees werden de gehalten aan vocht, vet en eiwit bepaald volgens resp. NEN 3440, 3443 en 3442.

2.3 Extractie van de monsters en uitvoering van de ELISA's

2.3.1 Cortecs biokits

De inhoud van een zakje of buisje werd m.b.v. een Ultra Turrax gemengd met 20 ml 0,15M NaCl oplossing. (Volgens de handleiding moet 25 g vlees worden geëxtraheerd met 100 ml zoutoplossing). Na minimaal 15 min. werd gefiltreerd over een S&S vouwfilter. Het filtraat werd tot op de dag van de bepaling ingevroren bij -20°C. Omdat deze kits alleen werkzaam zijn bij vlees dat minimaal is verhit bij 100 °C zijn de bij 80 °C verhitte monsters hiervoor niet gebruikt.

De ELISA werd volgens het bijgeleverde voorschrift uitgevoerd, de bijgeleverde wasoplossing (een tris/ NaCl oplossing) werd vervangen door de bij ons normaal gebruikte fosfaat/ NaCl oplossing (PBST). Op iedere microtiterplaat werd één cupje gevuld met reagentia, twee cupjes met positieve monsters en twee met negatieve monsters. Voor zover mogelijk werden de monsterextracten tweemaal in duplo opgebracht. Van de monsters bij 100 °C verhit kippevlees met gehalten van 25 en 50 % werd i.v.m. plaatsgebrek, één extract in duplo opgebracht, evenals alle monsters bij 120 °C verhit kippevlees. Na het ontwikkelen van de kleur werden de extincties gemeten met een Argus 400 microplate reader bij 405 nm. De aflezing van de monsters werd gecorrigeerd met die van de negatieve monsters.

2.3.2 ABC research

De inhoud van een zakje of buisje werd m.b.v. een Ultra Turrax gemengd met 10 ml. water. (Volgens de handleiding moest worden gemengd met behulp van een stomacher). Na minimaal 1 uur werd gecentrifugeerd bij 10.000 t/min (8500 x g). Het supernatant werd tot de dag van de bepaling ingevroren bij - 20°C.

In eerste instantie werd op enkele punten van het meegeleverde voorschrift afgeweken.

1e. De beschreven TRIZMA buffer pH 7,7 werd vervangen door een Tris buffer pH 7,7.

2e. De PBST buffer werd gemaakt met Tween 40 i.p.v. met Tween 80.

3e. De voorgeschreven ABTS-H₂O₂ oplossing werd vervangen door TMB-peroxidesubstraatoplossing van Kierkegaard & Perry Laboratories Inc. (450 nm)

4e. Na reactie werden de extincties alleen bij 405 nm gemeten (in plaats van de voorgeschreven referentiemeting bij 492 nm. werd de negatieve controle als referentie genomen).

In tweede instantie (na ca 3 maanden) werd de bepaling herhaald waarbij wel gebruik werd gemaakt van de door ABC voorgeschreven ABTS indicator.

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Chemische samenstelling van het monstermateriaal

De samenstellingen van de 100% vlees/hulpstoffenmengsels en die met 25% separator-, kippe- en varkensvleesmengsels staan vermeld in tabel 1. Bij de monsters met 25 % toevoeging staan tevens de uit de oorspronkelijke waarden berekende gehalten vermeld.

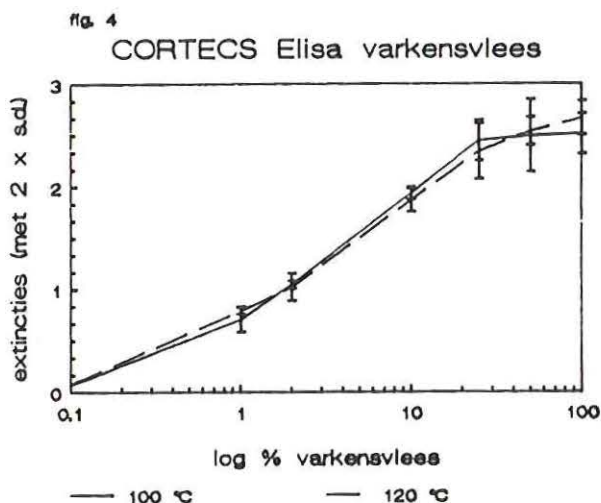
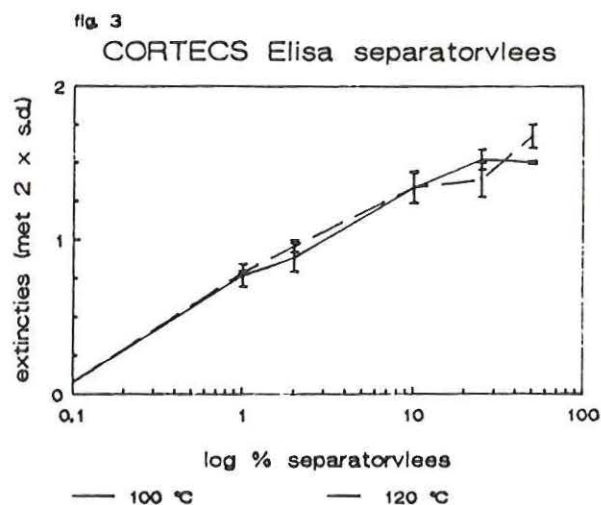
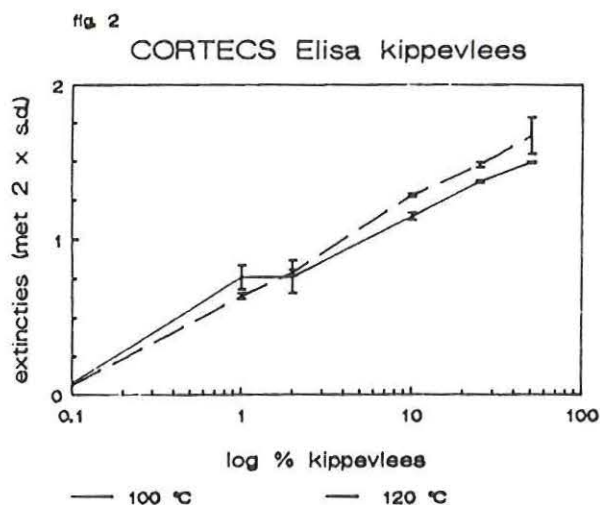
De berekende gehalten aan eiwit, vocht en vet in de monsters met 25% toevoeging komen in de meeste gevallen goed overeen met de bepaalde gehalten, wat er op wijst dat de monsters goed zijn gemengd.

3.2 Resultaten ELISA's

3.2.1 Resultaten cortecs Biokits ELISA

De aflezings van de microplate reader staan vermeld in de tabellen 2a t/m 2f.

In figuur 2 t/m 4 zijn de extincties van resp. kippe-, separator- en varkensvlees uitgezet tegen de logaritmen van de concentraties. Voor alle vleessoorten wordt op deze manier voor toevoegingen van 1%.



tot 25 à 50% een lineair verband gevonden. Reeds bij de laagste kippevleesgehalten (1%) werden hoge extincties gemeten, van de bij 100°C verhitte monsters was dit gemiddeld 0,76 en bij de bij 120°C verhitte monsters gemiddeld 0,64. De extincties van de monsters met 50% kippevlees waren gemiddeld 1,50 (100°C) en 1,67 (120°C). Deze extincties waren vergelijkbaar met die van de monsters met separatorvlees, 1% verhit bij 100°C gaf een gemiddelde extinctie van 0,77 en verhit bij 120°C was dit 0,64. Bij 50% toevoeging waren deze waarden resp. 1,50 en 1,67.

Ook bij de bepaling van varkensvlees werden hoge extincties gemeten. De bij 100°C verhitte monsters met 1% varkensvlees hadden een gemiddelde extinctie van 0,71, bij 120 °C verhitten was dit 0,79. Grotere gehalten hadden nauwelijks invloed op de meting, de extincties van 100% varkensvlees waren resp. 2,51 en 2,67.

De standaarddeviaties (s.d.) van de extincties liepen uiteen van 0,002 tot 0,352. Voor kippevlees was dat gemiddeld 0,053, voor separatorvlees 0,090 en voor varkensvlees 0,151.

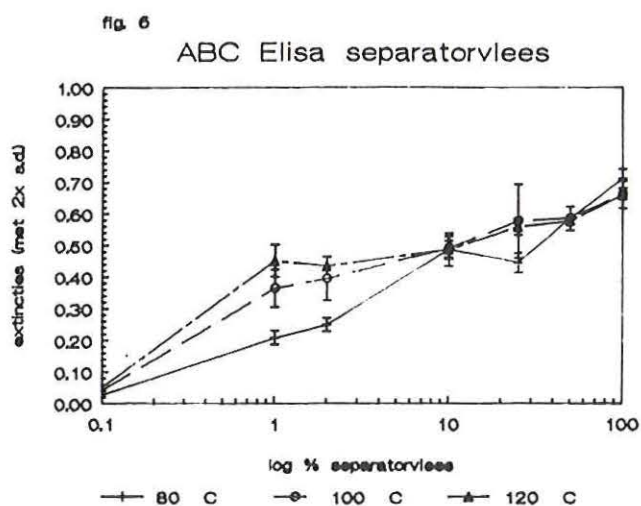
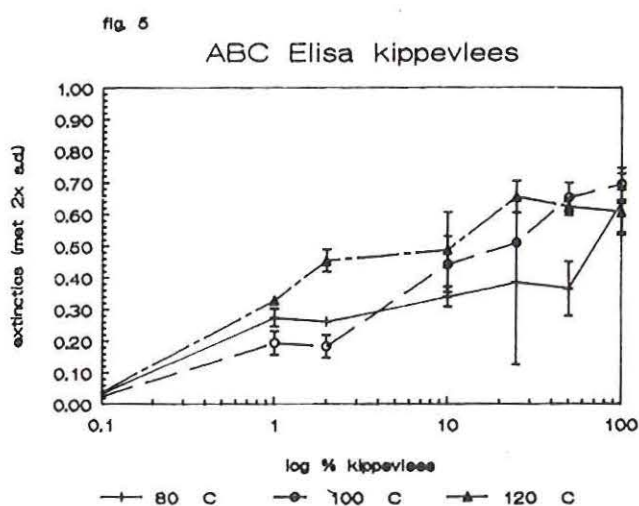
3.2.2 Resultaten ABC research ELISA

Omdat de door ABC voorgeschreven ABTS niet bij ons aanwezig was werd de eerste meting uitgevoerd met een kant en klare TMB-oplossing (van Kierkegaard & Perry). Hiermee werd voor separatorvlees geen extinctieverhoging gemeten, de extinctieverhoging bij kippevlees was minimaal, terwijl de spreiding groot was. Bij de bepaling van varkensvlees werd bij de bij 80 °C verhitte monsters een redelijke extinctieverhoging gemeten, met een grote spreiding. Bij de bij 100 en 120 °C verhitte monsters was de extinctieverhoging veel kleiner met een grote spreiding.

In tweede instantie (na ca drie maanden) werd de bepaling herhaald met de voorgeschreven ABTS indicator. Dit gaf betere resultaten. De resultaten waren echter beduidend slechter dan die bij gebruik van de Cortecs Biokits test.

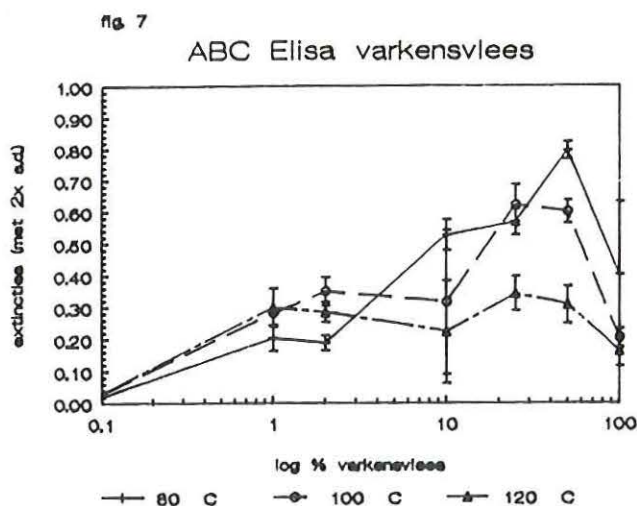
De gemeten extincties staan vermeld in de tabellen 3a t/m. 3i.

In figuur 5 t/m. 7 zijn de extincties uitgezet tegen de logaritmen van de concentraties.



De monsters met 1 % kippevlees die bij 80, 100 en 120 °C waren verhit gaven gemiddelde extincties van resp. 0,27, 0,19 en 0,33. Bij de monsters met 50% kippevlees was dit resp. 0,37, 0,65 en 0,62 en bij de monsters met 100% kippevlees resp. 0,64, 0,70 en 0,61.

De gemiddelde extincties van 1% separatorvlees, verhit bij 80°C bedroegen resp. 0,21, 0,37 en 0,45, die van de monsters met 50% separatorvlees waren resp. 0,58, 0,59 en 0,58 en die van de 100% separatorvleesmonsters resp. 0,71, 0,66 en 0,66. De waarden die werden gevonden voor separatorvlees waren van de zelfde orde van grootte als die van kippevlees. Bij de varkensvleesbepaling werden bij de monsters met 1%, die waren verhit bij 80, 100 en 120°C, gemiddelde extincties gemeten van resp. 0,21, 0,28 en 0,30, de monsters met 50% varkensvlees gaven gemiddelde extincties van resp. 0,80, 0,60 en 0,31 en die met 100% resp. 0,40, 0,21 en 0,16.



De gemiddelde standaarddeviaties waren voor kippevlees 0,034, voor separatorvlees 0,038 en voor varkensvlees 0,054.

Wanneer de extincties worden uitgezet tegen de logaritmen van de concentraties, blijkt dat er bij alle vleessoorten nauwelijks een lineair verband is te vinden.

Opmerkingen

-Alle monsters 100% varkensvlees gaven lagere tot veel lagere extincties dan de monsters met 50% varkensvlees. De oorzaak hiervan is niet met zekerheid vast te stellen. Het is mogelijk dat deze monsters "overloaded" waren of dat één van de incubatietijden te kort was. De laatste mogelijkheid lijkt het meest voor de hand te liggen omdat een aantal monsters dat extra op resterende vrije cupjes was opgebracht in tweede instantie ook veel lagere extincties gaf.

-De gemeten extincties zijn niet alleen veel lager dan die werden verkregen met de Cortex Elisa, maar ook veel lager dan ze zouden moeten zijn volgens de bij de ABC kits meegeleverde "Quality assurance assay data". Hierin werd opgegeven dat 1% kippevlees een extinctie van 0,520 zou moeten geven en 1% varkensvlees 0,393. Ook hiervoor is geen duidelijke reden aan te geven. Een oorzaak zou kunnen zijn dat de monsters na de eerste keer te zijn bepaald, waarbij ze een hele en bovendien warme dag op tafel hebben gestaan, opnieuw zijn ingevroren.

4 CONCLUSIES

De Cortecs kits geven voor zowel kippe-, separator- als varkensvlees zeer goede resultaten. De metingen van kippe- en separatorvlees zijn met elkaar vergelijkbaar. Van alle onderzochte vleessoorten kan in een rundvleesmengsel gemakkelijk 1% worden aangetoond. Wanneer de extincties worden uitgezet tegen de logaritmen van de te bepalen vleesconcentraties, worden tot concentraties van 25 à 50% nagenoeg rechte ijklijnen gevonden. De kits zijn compleet en gemakkelijk in het gebruik. Een nadeel is de hoge prijs, een meting in enkelvoud kost ca f 7,50.

De door ons gevonden resultaten met de kits van ABC Research waren beduidend slechter, er werden beduidend lagere extincties gevonden dan bij de Cortecs ELISA, terwijl de spreidingen ook veel groter waren. Desondanks kon in alle onderzochte mengsels ook gemakkelijk 1% van de onderzochte toevoegingen worden aangetoond. Uitzetten van de extincties tegen de logaritmen van de concentraties levert nauwelijks lineaire verbanden op. De kits zijn minder compleet dan die van Cortecs terwijl ook de gebruiksvriendelijkheid veel slechter is. De kosten zijn met ca f 3.-- voor een enkelvoudige meting echter veel lager.

De kits zijn door ons niet getest op mogelijke kruisreacties met andere eiwitten, bijvoorbeeld afkomstig van andere diersoorten of vleesvreemde eiwitten. Bij Cortecs zijn hierover gegevens te verkrijgen.

LITERATUUR

Berger, R.G., R.P. Mageau, B. Schab and R.W. Johnston

Detection of poultry and pork in cooked and canned meat foods by enzyme-linked immunosorbent assays.

J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71 (1988) 2, 406-409

Cazemier, G.

Een literatuuroverzicht van methoden voor identificatie en kwantificering van slachtdiersoorten en vleesvreemde eiwitten in vlees en vleesprodukten.

Wageningen 1990, RIKILT rapport 90.24

Hoek, A.C., P.R. Beljaars

ELISA's in levensmiddelen - Een literatuuroverzicht.

De Ware(n)-Chemicus 19 (1989) 37-68

TABELLEN

Tabel 1. Chemische samenstellingen van vleesmengsels

| | eiwit(%) | vocht(%) | vet(%) |
|-------------|----------|----------|--------|
| 100% rund | 17.60 | 69.39 | 6.30 |
| 100% sep. | 14.76 | 66.00 | 12.54 |
| 100% kip | 21.35 | 71.54 | 1.20 |
| 100% varken | 17.12 | 71.43 | 5.36 |
| 25% sep. | 17.22 | 68.11 | 8.00 |
| berekend | 16.89 | 68.54 | 7.86 |
| 25% kip | 18.66 | 69.70 | 5.78 |
| berekend | 18.54 | 69.93 | 5.03 |
| 25% varken | 17.76 | 69.37 | 5.79 |
| berekend | 17.48 | 69.90 | 6.07 |

Tabel 2a. Extincties Cortex ELISA kippevlees 100 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 % | 0,819 | 0,828 | 0,712 | 0,678 | 0,759 | 0,076 |
| 2 % | 0,675 | 0,662 | 0,858 | 0,844 | 0,760 | 0,106 |
| 10 % | 1,146 | 1,122 | 1,175 | 1,158 | 1,150 | 0,022 |
| 25 % | 1,370 | 1,379 | | | 1,375 | 0,006 |
| 50 % | 1,499 | 1,496 | | | 1,498 | 0,002 |

Tabel 2b. Extincties Cortex ELISA kippevlees 120 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|---------|-------|
| 1 | 0,625 | 0,649 | 0,637 | 0,017 |
| 2 | 0,799 | 0,777 | 0,788 | 0,016 |
| 10 | 1,292 | 1,280 | 1,286 | 0,009 |
| 25 | 1,493 | 1,472 | 1,483 | 0,015 |
| 50 | 1,754 | 1,587 | 1,671 | 0,118 |

Tabel 2c. Extincties Cortex ELISA separatorvlees 100 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0,734 | 0,685 | 0,823 | 0,838 | 0,770 | 0,073 |
| 2 | 0,944 | 0,988 | 0,804 | 0,816 | 0,888 | 0,092 |
| 10 | 1,426 | 1,419 | 1,246 | 1,259 | 1,338 | 0,098 |
| 25 | 1,594 | 1,550 | 1,508 | ,440 | 1,523 | 0,066 |
| 50 | 1,505 | 1,512 | 1,495 | 1,505 | 1,504 | 0,007 |

Tabel 2d. Extincties Cortex ELISA separatorvlees 120 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0,787 | 0,800 | 0,791 | 0,783 | 0,790 | 0,007 |
| 2 | 0,968 | 1,010 | 0,922 | 0,942 | 0,961 | 0,038 |
| 10 | 1,450 | 1,407 | 1,289 | 1,227 | 1,343 | 0,103 |
| 25 | 1,538 | 1,266 | 1,366 | 1,398 | 1,392 | 0,112 |
| 50 | 1,703 | 1,768 | 1,587 | 1,648 | 1,677 | 0,077 |

Tabel 2e. Extincties Cortex ELISA varkensvlees 100 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0,656 | 0,561 | 0,791 | 0,825 | 0,708 | 0,122 |
| 2 | 1,095 | 1,054 | 1,012 | 1,033 | 1,049 | 0,035 |
| 10 | 2,000 | 1,870 | 1,974 | 1,906 | 1,938 | 0,060 |
| 25 | 2,361 | 2,217 | 2,623 | 2,608 | 2,452 | 0,198 |
| 50 | 2,276 | 2,119 | 2,840 | 2,748 | 2,496 | 0,352 |
| 100 | 2,406 | 2,305 | 2,748 | 2,593 | 2,513 | 0,197 |

Tabel 2f. Extincties Cortex ELISA varkensvlees 120 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0,797 | 0,812 | 0,747 | 0,805 | 0,790 | 0,030 |
| 2 | 1,133 | 0,834 | 1,097 | 1,033 | 1,024 | 0,133 |
| 10 | 1,813 | 1,750 | 1,916 | 2,004 | 1,8708 | 0,112 |
| 25 | 2,188 | 2,043 | 2,577 | 2,577 | 2,346 | 0,273 |
| 50 | 4 | 4 | 2,637 | 2,445 | 2,541 | 0,136 |
| 100 | 2,815 | 2,792 | 2,593 | 2,468 | 2,667 | 0,166 |

Opm. De eerste twee opgebrachte monsters met 50% toevoeging zijn waarschijnlijk niet verhit geweest.

Tabel 3a Extincties ABC ELISA met kippevlees 80 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.292 | 0.278 | 0.292 | 0.234 | 0.274 | 0.027 |
| 2 | 0.258 | 0.267 | 0.246 | 0.273 | 0.261 | 0.012 |
| 10 | 0.367 | 0.352 | 0.411 | 0.351 | 0.370 | 0.028 |
| 25 | 0.427 | 0.356 | 0.364 | 0.384 | 0.385 | 0.036 |
| 50 | 0.354 | 0.338 | 0.433 | 0.334 | 0.365 | 0.046 |
| 100 | 0.643 | 0.611 | 0.624 | 0.644 | 0.636 | 0.023 |

Tabel 3b. Extincties ABC Elisa kippevlees 100 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.230 | 0.217 | 0.176 | 0.151 | 0.194 | 0.037 |
| 2 | 0.225 | 0.188 | 0.138 | 0.180 | 0.183 | 0.036 |
| 10 | 0.551 | 0.507 | 0.480 | 0.439 | 0.494 | 0.047 |
| 25 | 0.523 | 0.507 | 0.491 | 0.521 | 0.511 | 0.015 |
| 50 | 0.716 | 0.660 | 0.633 | 0.608 | 0.654 | 0.046 |
| 100 | 0.765 | 0.658 | 0.701 | 0.658 | 0.696 | 0.051 |

Tabel 3c. Extincties ABC Elisa kippevlees 120 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.329 | 0.314 | 0.331 | 0.337 | 0.328 | 0.010 |
| 2 | 0.501 | 0.456 | 0.438 | 0.420 | 0.454 | 0.035 |
| 10 | 0.581 | 0.570 | 0.545 | 0.563 | 0.565 | 0.015 |
| 25 | 0.726 | 0.656 | 0.626 | 0.615 | 0.656 | 0.050 |
| 50 | 0.593 | 0.629 | 0.619 | 0.656 | 0.624 | 0.026 |
| 100 | 0.689 | 0.620 | 0.517 | 0.603 | 0.607 | 0.071 |

Tabel 3d. Extincties ABC Elisa separatorvlees 80 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.232 | 0.193 | 0.220 | 0.189 | 0.209 | 0.021 |
| 2 | 0.240 | 0.239 | 0.238 | 0.281 | 0.250 | 0.021 |
| 10 | 0.555 | 0.480 | 0.479 | 0.428 | 0.486 | 0.052 |
| 25 | 0.460 | 0.475 | 0.404 | 0.435 | 0.444 | 0.031 |
| 50 | 0.636 | 0.581 | 0.574 | 0.545 | 0.584 | 0.038 |
| 100 | 0.750 | 0.714 | 0.700 | 0.679 | 0.711 | 0.030 |

Tabel 3e. Extincties ABC Elisa separatorvlees 100 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.418 | 0.411 | 0.301 | 0.329 | 0.365 | 0.059 |
| 2 | 0.486 | 0.414 | 0.342 | 0.341 | 0.396 | 0.069 |
| 10 | 0.520 | 0.523 | 0.450 | 0.474 | 0.492 | 0.036 |
| 25 | 0.722 | 0.620 | 0.484 | 0.484 | 0.577 | 0.117 |
| 50 | 0.581 | 0.596 | 0.584 | 0.583 | 0.586 | 0.007 |
| 100 | 0.656 | 0.652 | 0.652 | 0.620 | 0.663 | 0.018 |

Tabel 3f. Extincties ABC Elisa separatorvlees 120 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.518 | 0.464 | 0.418 | 0.406 | 0.452 | 0.051 |
| 2 | 0.455 | 0.449 | 0.416 | 0.419 | 0.435 | 0.020 |
| 10 | 0.527 | 0.470 | 0.475 | 0.476 | 0.487 | 0.027 |
| 25 | 0.582 | 0.580 | 0.538 | 0.535 | 0.559 | 0.026 |
| 50 | 0.588 | 0.588 | 0.561 | 0.572 | 0.577 | 0.013 |
| 100 | 0.720 | 0.640 | 0.657 | 0.622 | 0.660 | 0.043 |

Tabel 3g. Extincties ABC Elisa varkensvlees 80 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.257 | 0.216 | 0.174 | 0.174 | 0.205 | 0.040 |
| 2 | 0.180 | 0.197 | 0.217 | 0.164 | 0.190 | 0.023 |
| 10 | 0.594 | 0.535 | 0.503 | 0.484 | 0.529 | 0.048 |
| 25 | 0.606 | 0.607 | 0.539 | 0.532 | 0.571 | 0.041 |
| 50 | 0.831 | 0.799 | 0.792 | 0.765 | 0.797 | 0.027 |
| 100 | 0.624 | 0.581 | 0.219 | 0.193 | 0.404 | 0.230 |

Tabel 3h. Extincties ABC Elisa varkensvlees 100 °C.

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.260 | 0.294 | 0.291 | 0.291 | 0.284 | 0.016 |
| 2 | 0.389 | 0.388 | 0.329 | 0.302 | 0.352 | 0.044 |
| 10 | 0.508 | 0.547 | 0.533 | 0.528 | 0.529 | 0.016 |
| 25 | 0.691 | 0.669 | 0.573 | 0.564 | 0.624 | 0.065 |
| 50 | 0.627 | 0.633 | 0.554 | 0.599 | 0.603 | 0.036 |
| 100 | 0.181 | 0.195 | 0.199 | 0.246 | 0.205 | 0.028 |

Tabel 3i. Extincties ABC Elisa varkensvlees 120 °C

| Gehalte(%) | Extincties | | | | Gemidd. | s.d. |
|------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | 0.232 | 0.277 | 0.368 | 0.330 | 0.302 | 0.060 |
| 2 | 0.298 | 0.248 | 0.276 | 0.321 | 0.286 | 0.031 |
| 10 | 0.266 | 0.290 | 0.437 | 0.456 | 0.362 | 0.098 |
| 25 | 0.349 | 0.271 | 0.363 | 0.399 | 0.346 | 0.056 |
| 50 | 0.242 | 0.277 | 0.361 | 0.358 | 0.310 | 0.059 |
| 100 | 0.160 | 0.099 | 0.192 | 0.203 | 0.164 | 0.047 |